

活性汚泥における糖除去と汚泥中蓄積物

SUGAR REMOVAL AND MICROBIAL SUBSTRATE ACCUMULATION IN ACTIVATED SLUDGE

益永茂樹*・中西準子**・楠井隆史***・河崎哲久****

By Shigeaki MASUNAGA, Junko NAKANISHI,
Takashi KUSUI and Tetsuhisa KAWASAKI

1. はじめに

活性汚泥の浄化機構に関する研究は、数多く行われているが、その多くが速度論的考察であり、基質除去速度をいかに式で表現するかに終始してきた観がある。しかも、それらの報告の中では、きわめて無造作に活性汚泥による基質の「吸着」あるいは「蓄積」が仮定されている。そして、その「吸着」や「蓄積」の概念は、まったく生物代謝されないとされる物質の除去や、汚泥の沈降性を説明するためなどに用いられているが、現実に吸着や蓄積された物質が測定されたことはきわめてまれであり、常にそれらの概念はその場限りに都合よく仮定され、いまだに統一的な姿が浮かび上がってきていない。むしろ、「吸着」や「蓄積」の真の姿がつかめないからこそ、自由に解釈でき、現象が説明できたかのように思われてきたということができる。

しかし、こういう思考と実験の中からは、いくつもの式や説明は生まれても確かな実態は出てこないし、活性汚泥の働きも明らかになり得ない。筆者らは、活性汚泥の機構を明らかにするには、いまだ測定されずに仮定されてきたことを、実測し確かめることが重要だと考え、中でも、しばしば仮定されている「吸着」や「蓄積」に焦点を当てる必要を感じた。したがって、吸着および蓄積量を実際に測ることによって、その実態を明らかにし、さらに活性汚泥のメカニズムを、その実測された値を介在させて説明しようというのが、本研究の目的である。

汚泥中の基質を測定することは、分析方法も確立していないうえに、手間のかかる難しい問題であった。しか

し、筆者らは難分解性の物質である染料と ABS については分析法を確立し、それらの活性汚泥による除去機構についてすでに検討したり¹⁾。そこで、ここでは生物代謝されやすい物質の代表として糖類を取り上げ、それらの活性汚泥による浄化機構を明らかにしたので報告する。

2. 活性汚泥の糖除去に関する既存の研究

活性汚泥に基質を投与した直後にしばしば観察される急速な除去が、単なる吸着によるか、あるいは微生物の基質摂取によっているかは、よく議論されてきた。中でも糖類除去については、その除去の本質についての研究が進んできた。Gaudy, Jr.²⁾は混合培養菌にグルコースとソルビトールを同時投与すると、この順で除去されることをみつけた。Stumm-Zollinger³⁾も、グルコース、ガラクトース、フェニルアラニンなどを用い、2種類の基質を同時に投与したときの除去を調べ、一方の基質の微生物による摂取は、他方の基質の存在により阻害や抑制を受ける場合があることを示した。Siddiqi ら⁴⁾はラクトースを基質としたコンタクト・スタビリゼーション・プロセスにおいて、汚泥のラクトース除去活性が変化することをみつけ、それは細胞外にラクトースが存在するとラクトース透過酵素系の合成が誘導されることによると説明した。以上の研究結果は、いずれも活性汚泥の除去が酵素の介在する生物学的取り込みによることを示している。そして、Jeris ら⁵⁾はグルコース除去が酵素による細胞内への輸送によっているとし、Michaelis-Menten の式が当てはまるとした。しかし、以上の研究からすべての糖除去が微生物の取り込みによることがわかったわけではない、また、そうであったとしても説明できない現象が残っている。

Painter ら⁶⁾は糖を活性汚泥に繰り返し投与すると除去活性が低下していく現象をみつけ、これは汚泥中に貯

* 正会員 工博 通産省公害資源研究所

** 正会員 工博 東京大学助手 工学部都市工学科

*** 学生会員 工修 東京大学大学院博士課程

**** 正会員 工修 環境庁

表-1 汚泥の培養*

汚泥の呼称	別養基質** (投与時の混合液中での濃度と MLSS 負荷)	培養槽での MLSS (mg/l)	汚泥の状況		
			色	30分沈殿率	その他
グルコース汚泥	グルコース (500 mg/l, 0.33 g/g・日)	約 1500	淡黄色	2~9%	糸状菌が優占
フラクトース汚泥	フラクトース (500 mg/l, 0.42 g/g・日)	約 1200	白っぽい色	2~4%	
キシロース汚泥	キシロース (500 mg/l, 0.33 g/g・日)	約 1500	黒っぽい色	10~30%	

* 20°C の恒温室内で培養した。水温は 17~20°C であった。

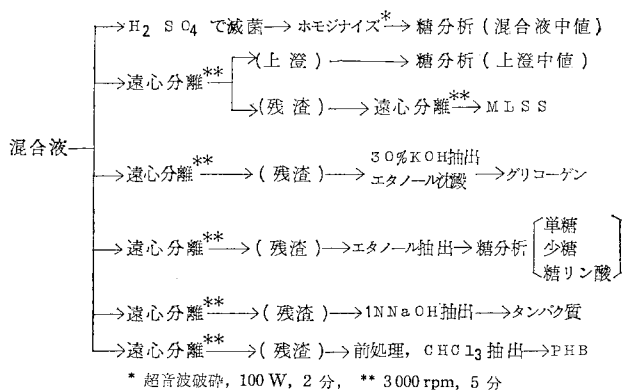
** このほかに、栄養塩として、糖 500 mg/l 当り、尿素を *N* として 20 mg/l、リン酸塩を *P* として 5 ppm、MgSO₄、MnSO₄、FeCl₃、CaCl₂ をそれぞれ Mg、Mn、Fe、Ca として 2.5、0.75、0.025、0.7 mg/l ずつ投与した。

蔵物が蓄積するためではないかと考えたが確認できなかった。それに対し、Walters ら⁸⁾や真柄ら⁹⁾は、いずれもグルコースを基質とした実験で、汚泥の炭水化物蓄積量と汚泥の除去活性との間の相関を認めた。Dohanyos ら¹⁰⁾も、グルコースを基質とした実験で、基質投与後の除去速度の変化から汚泥の糖蓄積能を評価する式を提案している。さらに、合田ら¹¹⁾は汚泥の糖蓄積と除去能の関係に着目した活性汚泥の動力学モデルを提案し、モデルをグルコースを基質とした実験において検証している。

このように、活性汚泥による糖除去の研究は、微生物による糖の取り込み、ついで汚泥への糖の蓄積の効果という観点から進められてきた。しかし、これまでの研究では、おもにグルコースを基質としてしか調べられていないこと、汚泥への糖の蓄積の形態が明らかにされていないことなどの不十分な点も多い。本研究では、それらの点を埋めるべく、基質の種類を広げるとともに、汚泥中の糖蓄積の挙動を詳しく検討していくことにする。

3. 実験方法

実験用汚泥は下水処理場返送汚泥を種汚泥とし、実験室において糖を基質として1日1回の fill and draw 方式で培養したものである。培養槽は 20 l で、培養に用いた糖は 3 種あり、培養条件と汚泥の呼称は表-1 のようになっている。汚泥の引き抜き率はいずれの汚泥も毎日混合液で 1/8 で、上澄は約 1/2 を毎日入れ替えた。このようにして 1 か月以上培養を続けた後、基質投与後ほぼ 24 時間を経過し、上澄の 1/2 を水道水と入れ替えた状態で汚泥を 2~3 l 採取して実験に供した。この状態で前日投与した糖が上澄に残存していることはなかった。実験はバッチ方式で行い、基質投与に際しては、投与する糖の量に応じて培養時と同じ比率(表-1 の注)で栄養塩類を添加した。糖と栄養塩は溶液にして投与した。曝気はデフューザーと攪拌を併用してサンプリング時に汚泥が均一になるようにし、溶存酸素も零とならぬようにした。サンプリングは基質投与直前と投与後時間を追っ



* 超音波破砕, 100 W, 2分, ** 3000 rpm, 5分

図-1 分析手順

表-2 分析方法

項目	分析方法
MLSS	遠心分離法
グルコース	グルコスタット法 ¹²⁾
グルコース系糖類	アンスロン法 ¹³⁾
フラクトース	レゾルシン法 ¹⁴⁾
キシロース	オルシン-Fe ³⁺ -HCl 法 ¹⁵⁾
グリコーゲン	30% KOH で抽出し、エタノールで沈殿させた後 ¹⁶⁾ 、アンスロン法で定量
単糖類	80% エタノールで 5 分間煮沸抽出した後、各糖の定量法によった。
タンパク質	Lowry-Folin 法 ¹⁷⁾
PHB	前処理後、クロロホルムで抽出し、加水分解後吸光を測定 ¹⁸⁾

て行い、図-1 の手順によって分析に入った。分析法は表-2 に示した。

汚泥の基質蓄積量は遠心分離残渣を分析するか、あるいは、混合液の分析値から上澄の分析値を差し引いて値を求めた。糖の分析では、汚泥を加水分解した後の分析値とホモジナイズしただけの分析値で差が小さかったので、グルコスタット法などを除きホモジナイズしただけで分析する方法を採用した。差がなかったのは分析条件が濃い酸の中での反応なので、汚泥の可溶化と糖の加水分解が、ほぼ完全に進行したためと考えられる。糖の分析法はグルコスタット法を除いて 1 つの種類の糖に対し完全に特異的に反応するというわけではないので、相互に補正して値を求めている。それでも特にアンスロン法の場合、グルコース以外の六炭糖がかなり掛かってくるので、グルコスタット法によるグルコースと区別するために、「グルコース系糖類」とよぶことにする。分析値の

よび方は、たとえばグルコースの場合、遠心分離上澄の分析値を「上澄中グルコース」、混合液の分析値を「混合液中グルコース」、遠心残渣の分析値を「汚泥中グルコース」とよぶことにする。分析の標準物質は上澄と汚泥で共通なので、上澄中基質、汚泥中基質および MLSS の値の換算係数は1としてよい。また上澄からの糖の減少を「除去」、汚泥中の糖の増加を「蓄積」、混合液中からの全糖類（種々の糖類の総和のこと）の減少を「糖代謝」とよぶことにする。糖代謝とは、いいかえると、汚泥微生物による糖の糖以外の物質（細胞構成成分や分解産物）への変換のことである。除去は、蓄積と代謝とを加えたものに等しいという関係が、これら3つの間に成り立っている。

なお、本論文においては生物量の指標として、MLSS から、汚泥中全糖類蓄積を引いた残りの値を生物本体と考慮して用いることにした。これを MLSS のうち活性のある部分と考え、Ma と表示する。

4. バッチ実験の結果

実験は基質としてグルコース（六炭糖、アルドース）、フラクトース（六炭糖、ケトース）、キシロース（五炭糖、アルドース）の3種を用い、これらを3種の汚泥（表-1）に投与して行った。そのうち主要なものを紹介する。

(1) グルコースをグルコース汚泥に投与 (Batch No. 1)

MLSS が 1688 mg/l のグルコース汚泥にグルコース 1000 mg/l を投与した結果が図-2である。グルコースの除去速度は初め 770 mg/g Ma/hr であったのが途中から 310 mg/g Ma/hr 程度まで低下して、折れ線に近い除去パターンを示している。除去に対応して汚泥中グルコース系糖類が 326 mg/l から 744 mg/l (生物量当りで 0.24 から 0.48 mg/mg Ma) へと急増している。しかも、その増加の大部分はグリコーゲン（グルコースが数千分子以上重合した多糖）である。つまり、単糖であるグルコースが汚泥に取り込まれると、直ちに生化学的変換を受けてグリコーゲンになり汚泥に蓄えられているわけである。汚泥中の糖蓄積は、ある程度まで増加すると蓄積速度が低下し、蓄積量は上澄中グルコースがなくなったところで最大となり、その後はゆっくりと減少している。

(2) フラクトースをフラクトース汚泥に投与 (Batch No. 2)

MLSS 961 mg/l のフラクトース汚泥にフラクトース

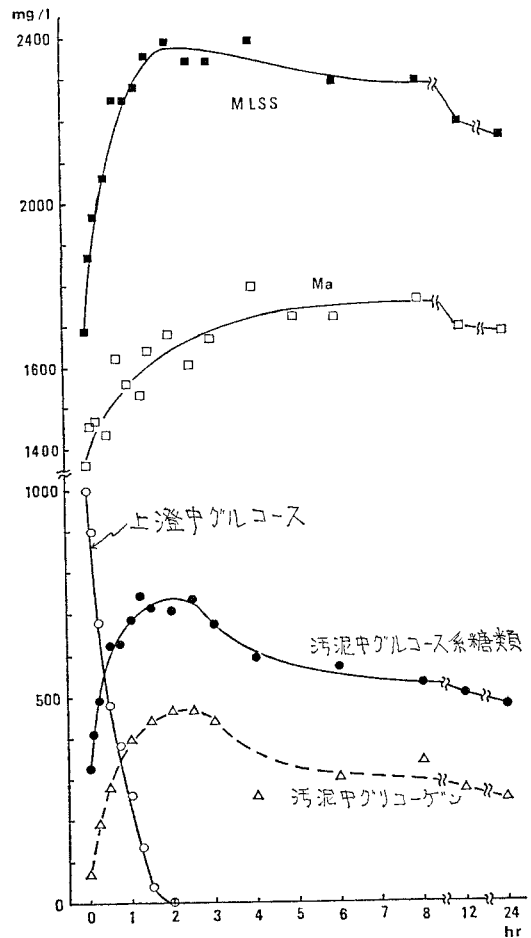


図-2 グルコースをグルコース汚泥に投与した実験 (Batch No. 1)

1000 mg/l を投与した結果が、図-3 である。この場合も、初め 780 mg/g Ma/hr であった除去速度は途中から徐々に 400 mg/g Ma/hr 程度まで低下しており、除去完了直前にはさらに大きく低下している。汚泥中糖蓄積は、グルコース系糖類が 194 から 509 mg/l (生物量当りで 0.25 から 0.63 mg/mg Ma) へと増加し、その変化の大部分はグリコーゲンが担っている。投与したフラクトースその物での蓄積は、上澄中フラクトースの残存期間に限りわずかだけ増加がみられる。汚泥中タンパク質は糖蓄積に比べて変化は小さく、しかも遅れて増加している。

(3) キシロースをキシロース汚泥に投与 (Batch No. 3)

MLSS 898 mg/l のキシロース汚泥に 1000 mg/l のキシロースを投与したのが図-4 である。除去はほぼ0次反応で進行している点が、前の2つのバッチ実験と異な

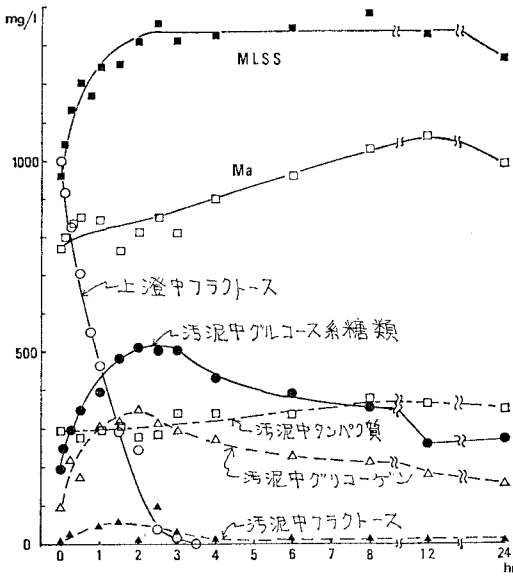
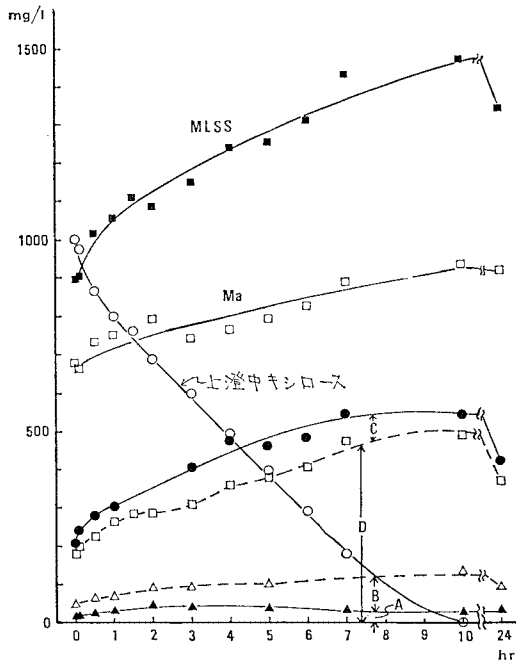


図-3 フラクトースをフラクトース汚泥に投与した実験 (Batch No. 2)



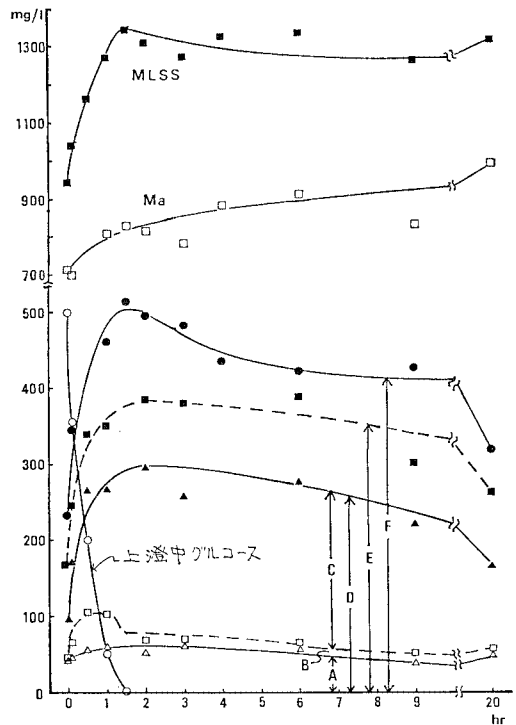
A: 汚泥中単糖グルコース B: 汚泥中グリコーゲン
C: 汚泥中キシロース D: 汚泥中グルコース系糖類
図-4 キシロースをキシロース汚泥に投与した実験 (Batch No. 3)

る。しかも除去速度も 150 mg/g Ma/hr と遅い。汚泥中の糖の変化をみると、グルコース系糖類 (図中 D) が 178 から 491 mg/l (生物量当り 0.25 から 0.50 mg/mg Ma) へと増加しているが、その変化の主体は単糖グルコース (図中 A) でもグリコーゲン (図中 B) でもな

い。これは、次の Batch No. 4 の結果も合わせて考えると、グリコーゲンほど重合度の大きくないグルコースの重合体と推定される。キシロースとしての蓄積 (図中 C) は、わずかだけみられている。キシロースの場合も、汚泥への主たる蓄積はグルコースの重合体であった。しかし、グリコーゲンでない点と除去が外見上 0 次反応で進行した点が、グルコース、フラクトースの場合と異なっている。

(4) グルコースをキシロース汚泥に投与 (Batch No. 4)

Batch No. 3 ではグリコーゲンの蓄積が顕著でなかった。この原因がキシロースという基質にあるのか、それとも汚泥にあるのかを調べるため、キシロース汚泥にグルコース 500 mg/l を投与した。キシロース汚泥は培養槽で基質投与を受けてから、約 1 日後に採取し、上澄の 1/2 を水道水と入れ替えたので、上澄にキシロースは残存していなかった。結果は 図-5 である。Batch No. 3 で、キシロースを 150 mg/g Ma/hr でしか除去できなかったキシロース汚泥は、今度は未馴致基質であるグルコースを与えられたにもかかわらず、約 630 mg/g Ma/hr



A: 汚泥中グリコーゲン B: 汚泥中単糖グルコース
C: 汚泥中低重合グルコース D: 汚泥加水分解上澄中グルコース
E: 汚泥加水分解上澄中グルコース系糖類
F: 汚泥中グルコース系糖類

図-5 グルコースをキシロース汚泥に投与した実験 (Batch No. 4)

というはるかに速い速度で除去している。汚泥中グルコース系糖類(図中F)の変化をみると 233 から 514 mg/l (生物量当りで 0.33 から 0.62 mg/mg Ma) と増加している。その内容を詳しく調べたところ、その変化を担っているのは、汚泥を加水分解した上澄に含まれるグルコース系糖類(図中E)で、しかもそのうちのグルコースだけの部分(図中D)である。その加水分解してグルコースになる部分のうち、グリコーゲン(図中A)の変化はわずかでしかなく、また単糖グルコース(図中B)は上澄中グルコースの残存期間だけ増加がみられるものの増加の主体ではない。結局、加水分解してグルコースになる部分のうち、グリコーゲンと単糖グルコースを除いた部分(図中C)が変化しており、これは、当然グリコーゲンほど重合度の高くないグルコース重合体と推定された。したがって、キシロース汚泥は、キシロースに馴養される間にグリコーゲン型の蓄積物を作る能力を失っていったと考えられる。

(5) キシロースをグルコース汚泥に投与 (Batch No. 5)

Batch No. 4 の逆にグルコース汚泥にキシロース 500 mg/l を投与したのが図-6である。このときも、Batch No. 4 と同様、上澄にグルコースのない状態で投与している。除去は初期 30 分間は平均で 280 mg/g Ma/hr と急速であるが、その後は 8 mg/g Ma/hr と非常にゆっくりになっており、これまでの4つのパッチ実験と比べて特異な除去パターンを示している。汚泥中糖蓄積をみると、初期除去されたキシロース 187 mg/l は、そっくり汚泥中単糖型キシロース(図中C) 180 mg/l の増加として現れている。そして、グルコース系糖類(図中B)の蓄積はまったくみられない。キシロースの代謝は、混合液中キシロースの変化からわかるように、初期1時間はまったく起こっておらず、その後は除去とほぼ並行して進行している。このパッチ実験についての検討は後で行う。

(6) パッチ実験のまとめ

以上のほかにも多数行ったパッチ実験の結果をまとめたのが表-3である。基質と汚泥の組み合わせを決めれば、その結果は、単位生物量当りで表現するとある程度の範囲に収まっている。

除去パターンについてみると、大きく分けて2つの型があった。1つは Batch No. 1~4 のように除去速度の多少の低下はあっても0次反応に近い除去が基質がなくなるまで進行していく型で、表-3 では後述の考察の結果を踏まえて「能動輸送型」と表示してある。もう1つは Batch No. 5 の場合で、除去が初期の速い部分とそ

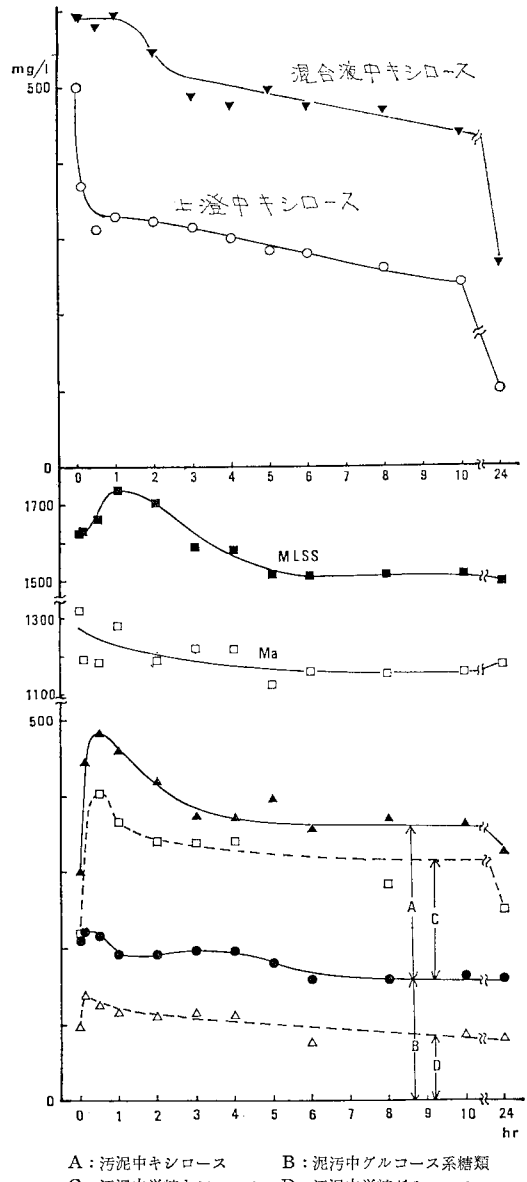


図-6 キシロースをグルコース汚泥に投与した実験 (Batch No. 5)

の後の非常に遅い部分に明確に区別できる型であって、その除去パターンが吸着除去に似ていることから、「吸着型」と表示した。

除去速度は、同一汚泥についてみると、必ずグルコース > フラクトース > キシロースの順で速くなっている。除去進行中の混合液中の全糖類の減少速度、すなわち代謝速度の大きさも除去速度と同じ順番になっている。

汚泥への糖蓄積の形態では、能動輸送型の除去のものがグルコース重合体になっており、吸着型のものが投与

表-3 バッチ処理実験のまとめ

基 質	比 較 項 目 ^{*,**}	汚 泥		
		グ ル コ ー ス 汚 泥	フ ラ ク ト ー ス 汚 泥	キ シ ロ ー ス 汚 泥
グ ル コ ー ス	除 去 型 除去速度 (mg/g Ma/hr) 代謝速度 (mg/g Ma/hr) 代謝速度/除去速度 取 率 おもな糖蓄積形態	能 動 輸 送 型 750~1200 330~450 0.37~0.44 0.65~0.75 グリコーゲン	—	能 動 輸 送 型 280~500 200~320 0.60~0.75 0.65~0.80 低重合グルコース
フ ラ ク ト ー ス	除 去 型 除去速度 (mg/g Ma/hr) 代謝速度 (mg/g Ma/hr) 代謝速度/除去速度 取 率 おもな糖蓄積形態	能 動 輸 送 型 約 500 約 350 約 0.7 約 0.65 —	能 動 輸 送 型 620~780 380~410 0.52~0.60 0.4~0.5 グリコーゲン	能 動 輸 送 型 180~310 120~200 0.60~0.75 0.55~0.65 —
キ シ ロ ー ス	除 去 型 除去速度 (mg/g Ma/hr) 代謝速度 (mg/g Ma/hr) 代謝速度/除去速度 取 率 おもな糖蓄積形態	吸 着 型 { 初期除去 : 投与負荷に依存 初期除去後 : 6~31 10~40 初期除去終了後 ≒ 1 初期 0.6~0.9 キ シ ロ ー ス	—	能 動 輸 送 型 60~180 50~120 0.60~0.85 0.55~0.70 低重合グルコース

* 除去速度と代謝速度は基質投与直後の比較的0次反応に近い部分より求めた。

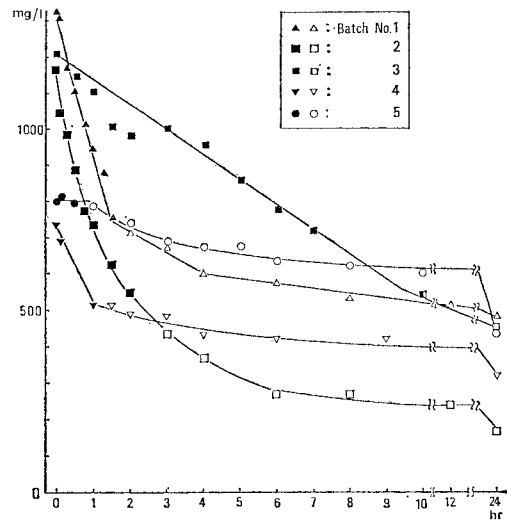
** 収率は除去進行中における実測値で、(4MLSS/除去糖類量)より求めた。

基質そのままになっている。なお、汚泥中 PHB (polyhydroxybutyrate) の変化も測定したが、その変化は汚泥中グルコース系糖類と同様、増加と減少を示すものの、絶対量は非常に小さかった。たとえば Batch No. 3 での変化の範囲は 1.4~28 mg/l (生物量当り 0.002~0.030 mg/mg Ma) であった。量が少ないので重要な役割を演じているとは考えられなかった。

5. 糖除去機構に関する考察

(1) 吸着型と能動輸送型の除去

ここでは、Batch No. 1~4 と No. 5 との間の除去パターンの違いについて検討する。除去パターン以外の相違点を列挙すると次のようになる。① 糖の汚泥への蓄積形態が Batch No. 1~4 ではグルコース重合体であったのに対し、No. 5 では投与基質そのままであった。② 図-7 に Batch No. 1~5 の混合液中全糖類の変化を示した。No. 1~4 では、上澄からの除去が進行している間(塗りつぶした印)は全糖の減少すなわち糖代謝も速いのに対し、No. 5 だけは初期の速い除去の進行中にもかかわらず糖代謝が起っていない。③ 溶存酸素の測定データによると、No. 1~4 では除去進行中の酸素摂取が大きかったのに対し、No. 5 では初期除去の間の溶存酸素の低下は顕著ではなかった。④ No. 5 と同じバッチ実験を負荷を変えて行ったところ、その初期除去完了時(投与後 30 分)の上澄中キシロース濃度と汚泥中キシロースとの間にはラングミュア型の吸着式が成立した。



Batch No. 1~4 の塗りつぶした印は上澄に糖が残存していることを示す。Batch No. 5 の塗りつぶした印は初期除去進行中を示す。

図-7 混合液中全糖類の変化

以上の相違点について考察を進めるため、微生物による溶液中の糖の除去にどのような機構があるかを検討してみよう。まず、糖が単に微生物の表面に吸着されて除去される場合と、細胞膜を通して微生物体内へ取り込まれて除去される場合の2通りが考えられる。そして、生物体内への糖の取り込みに関しては大きく分けて2通りあることが知られている。その1つはエネルギーを必要としない濃度差に依存した糖の細胞内への拡散で、単純拡散と、酵素の媒介により拡散速度を速められた促進拡

散の2通りが存在する。もう1つは生物が濃度差に逆らってエネルギーを使って糖を取り込むもので、細胞膜の内外で糖の形態が変わらない能動輸送とよばれるものと、リン酸転移酵素系によって、細胞内へは糖リン酸の形になって入るグループ転置とよばれるものの2通りがある¹⁹⁾ (以下、このエネルギーを使った取り込みを両方とも合わせて能動輸送とよぶことにする)。

この生化学的知見と、活性汚泥で観察された現象とをつき合わせてみることにする。能動輸送にはかなりのエネルギーを必要とするという事実と、糖の代謝はエネルギーの供給源であり、代謝には酸素が必要だということを考え合わせると、②、③の現象から Batch No. 1~4の除去は能動輸送によると考えるのが妥当である。

次に、吸着型と名づけた Batch No. 5 の場合であるが、初期除去は速く、しかもエネルギーをそれほど必要としないようなので、吸着か、あるいは、促進拡散による除去と考えられる。この型の除去が現れるのは、グルコース汚泥とキシロースや α-メチル-グルコシドのような汚泥と糖の特殊な組み合わせの場合に限られている。しかも、生化学的知見によれば、キシロースや α-メチル-グルコシドのある種の微生物による取り込みは、グルコースと同一の膜透過酵素系によっているが、それらの代謝にはグルコースの場合とは別の酵素系が必要だとされている^{20),21)}。したがって、吸着型の除去は、汚泥微生物がグルコースで馴養されていたので、キシロースの取り込み酵素系ももっていて、濃度差に応じた量は取り込めたが、代謝はできなかったために現れたと考えられる。この除去が汚泥表面への吸着でなく取り込みによっているということは、同じグルコースで培養した汚泥であっても、糖の蓄積容量の小さい連続培養汚泥に投与した実験では初期の速い除去と蓄積形成の部分をもっとく欠いていたという結果²²⁾からも支持されている。また、初期除去による汚泥中キシロース蓄積量と上澄中残存キシロース濃度にラングミュアの吸着式が成立したことについては、Cohenら²⁰⁾も指摘したように、促進拡散による取り込みが Michaelis-Menten 型の酵素反応により、しかも、蓄積された糖は蓄積量が増えるに従って細胞からの漏出も増えるとして、そのバランスを考えれば説明できる。

以上のように、糖の活性汚泥による除去には機構的に異なる2つの型が存在することが明らかになった。以下の節では、より一般的な型と考えられる能動輸送型について考察していく。

(2) 除去と糖代謝の関係

能動輸送による除去が進行している間は、糖代謝も速いことがわかったが、図-7の代謝のパターンと各バッチ

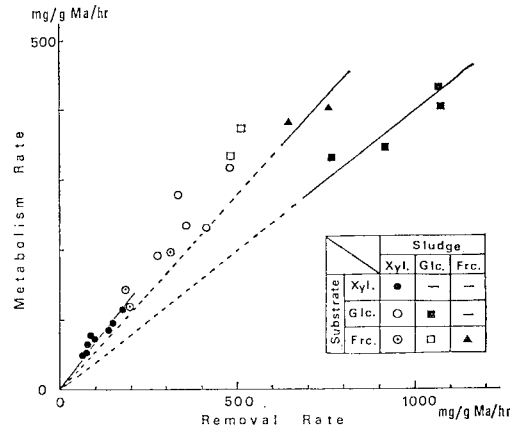


図-8 除去速度と糖代謝速度

チの除去パターンとは、よくみると同じような形になっていることがわかる。たとえば、Batch No. 2 では除去速度が徐々に低下していったが、その間の代謝速度もそうっており、Batch No. 3 ではほぼ0次反応で除去が進んだのに対し、その間の代謝も0次反応で進行している。すなわち、除去進行中の除去と代謝には相関があるようである。図-8には、各バッチ実験の投与直後の一部分での除去速度と代謝速度の関係を図示した。基質や汚泥の異なるデータは印によって区別してあるが、基質と汚泥の種類が決まれば、代謝速度/除去速度の比はほぼ一定の値をとっている。これを式に表せば次のようになる。

$$\left(-\frac{dS_{ML}}{dt}\right) = \alpha \left(-\frac{dS_{ex}}{dt}\right) \dots \dots \dots (1)$$

S_{ML} : 混合液中全糖濃度 (mg/l)

S_{ex} : 上澄中糖濃度 (mg/l)

$\left(-\frac{dS_{ML}}{dt}\right)$: 糖代謝速度 (mg/l/hr)

$\left(-\frac{dS_{ex}}{dt}\right)$: 糖除去速度 (mg/l/hr)

α : 代謝速度/除去速度の比例定数

代謝速度/除去速度の比例定数 α は、それぞれの馴致汚泥に投与した場合、キシロース > フラクトース > グルコースの順で大きくなっており、キシロースで約0.7、グルコースで約0.4の値となっている。この順番は、除去速度の大ききの順番とは逆になっていて、取り込まれやすい糖の方が、取り込みに伴う代謝が少なくてもよい、すなわち、取り込みに必要なエネルギーが少なくてもよいという関係になる。

(3) 除去完了後の糖代謝

上澄からの除去が完了した後の糖代謝は除去進行中に比べてずっと遅い(図-7)。除去完了後の糖代謝速度とそのときの汚泥中糖蓄積の関係を示したのが図-9であ

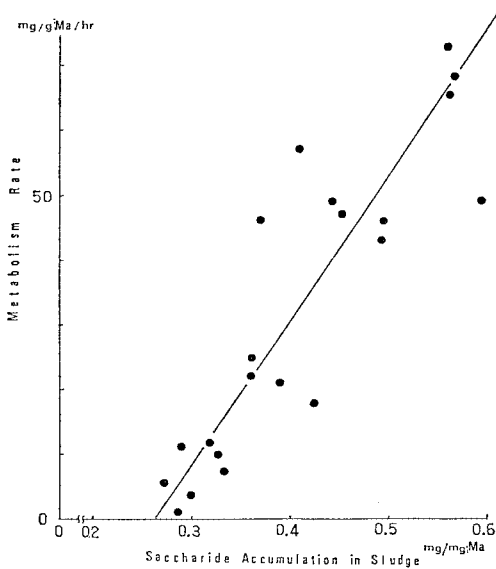


図-9 汚泥中糖蓄積と糖代謝速度 (グルコースをグルコース汚泥に投与)

る。糖蓄積の減少とともに代謝速度もほぼ直線関係で低下していき、ほとんど0に近づいている。この代謝速度が0に近づくときの汚泥当りの糖蓄積を「基底糖蓄積」とよぶことにすると、汚泥中糖蓄積から基底糖蓄積を引いた残りの糖蓄積は1次反応に従って代謝されていくことになる。この基底糖蓄積は貯蔵物としての糖というより、むしろ細胞構成成分としての糖と考えられ、貯蔵物としての糖が1次反応で代謝されるわけである。この関係を式にすると次のようになる。

$$\left(-\frac{dS_{ML}}{dt}\right) = K_1 \cdot M_a \left(\frac{S_{in}}{M_a} - C_b\right) \dots \dots \dots (2)$$

- S_{in} : 汚泥中全糖濃度 (mg/l)
- M_a : 生物本体の濃度 [MLSS- S_{in}] (mg/l)
- C_b : 基底糖蓄積 (mg/mg Ma)
- K_1 : 糖蓄積代謝速度定数 (1/hr)

図-9にはグルコースをグルコース汚泥に投与した場合を示したが、フラクトースをフラクトース汚泥に投与した場合には速度定数 K_1 はグルコースの場合より大きくなり、キシロースをキシロース汚泥に投与した場合には小さめになる傾向がみられた。

(4) 除去速度と汚泥中糖蓄積

グルコースやフラクトースの投与実験 (Batch No. 1, 2, 4) では、上澄からの除去の進行に従って汚泥中グルコース系糖蓄積が急速に増加し、蓄積が増加すると除去速度が代謝速度と同じレベルまで低下していき、ついに汚泥の糖蓄積の進行が止まるという現象が観察された。これは汚泥の糖蓄積にある限界があるとみることができ

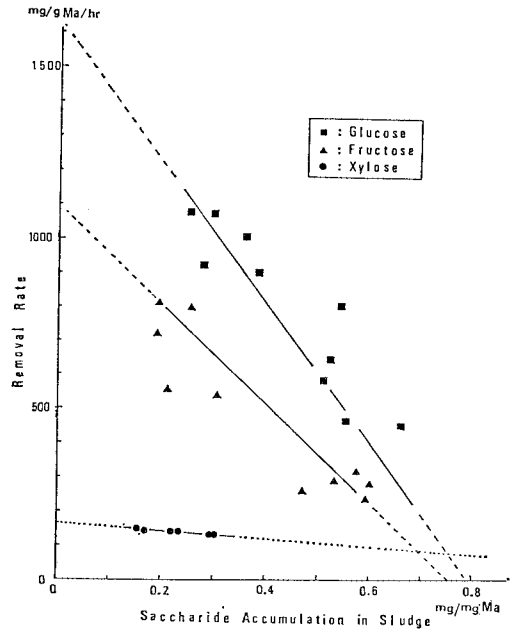


図-10 汚泥中糖蓄積と除去速度

るし、より生化学的にみれば、能動輸送に関与する酵素系の働きが、糖蓄積により阻害されているともみることができる。

この現象をより明らかにするために、まず汚泥に1回目の基質投与を行い、その後、時間の経過に従って種々の糖蓄積をもつ汚泥を採取し、上澄を水道水と入れ替えた後、それに再度 500 mg/l ずつの基質投与をして、このときの初期除去速度を求める実験を行った。結果は図-10であり、グルコース汚泥にグルコースを投与した場合、フラクトース汚泥にフラクトースを投与した場合、それにキシロース汚泥にグルコースを投与して糖蓄積を作った後でキシロースを投与した場合*の3通りが示してある。グルコースとフラクトースでは汚泥中糖蓄積の増大に従って汚泥の除去能力が低下することが明らかである。しかし、キシロースでは汚泥中糖蓄積による阻害効果はわずかでしかない。この結果は、バッチ実験において、グルコースやフラクトースを投与した場合に除去速度が除去の進行に従って低下したのに対し、キシロース (Batch No. 3) ではほぼ一定であったという事実をよく説明している。

キシロースと他の2つの糖で、汚泥中糖蓄積の効果が異なった原因は明らかではないが、グルコースとフラクトースがグリコーゲンとして蓄積したのに対し、キシロースでは低重合グルコースでしかなかったという事実と

* キシロースを投与しても除去が遅く汚泥中糖蓄積をつくりにくいので、グルコースを投与した。それでも汚泥中糖蓄積はあまり大きくできなかった。

関係があるのかもしれない。

この汚泥中糖蓄積による除去速度の低下を考えるなら、すでにみてきたバッチ実験での除去速度の除去進行に従った低下を説明できる。しかし、バッチ実験で除去完了直前に除去速度が非常に遅くなった現象は説明できない。この部分は、Jerisら⁹⁾がグルコース除去で主張したように、Michaelis-Mentenの式が成り立ち、しかもMichaelis定数は小さいという場合にあたっているように思われるが、この除去完了直前の問題は全体からみれば大きな問題ではないので、ここでは一応、上澄中基質濃度に対し0次反応を基本として、それに汚泥中糖蓄積による除去阻害効果が加わっているという機構を考え、**図-10**のように阻害効果を直線で近似して数式化を試みる。すると除去速度は次の式で表される。

$$\left(-\frac{dS_{ex}}{dt}\right) = K_0 \cdot M_a \cdot \left(C_{max} - \frac{S_{in}}{M_a}\right) \dots\dots(3)$$

K_0 : 除去速度定数 (1/hr)

C_{max} : 除去速度が0となる仮想最大汚泥中糖蓄積 (mg/mg M_a)

K_0 と C_{max} は、**図-10**において除去阻害効果を近似した直線が横軸と交わる点と傾きから求められる。

6. 活性汚泥の能動輸送型糖除去モデル

(1) モデルの作成

前章における考察に基づき、糖除去機構のモデル化を試みる。吸着型の初期除去についてはラングミュアーの吸着式が現象的にあてはまることがわかっているので、以下ではより本質的と考えられる能動輸送型の除去のモデルを作成する。

糖の上澄からの除去に関しては式(3)が成立する。これは上澄中に糖が残存しているときの式なので、より一般的には次のように表せる。

$$\left. \begin{aligned} S_{ex} > 0 \text{ (上澄中に糖が残存時) では,} \\ \left(-\frac{dS_{ex}}{dt}\right) &= K_0 \cdot M_a \cdot \left(C_{max} - \frac{S_{in}}{M_a}\right) \\ S_{ex} = 0 \text{ (上澄から糖がなくなった後) では,} \\ \left(-\frac{dS_{ex}}{dt}\right) &= 0 \end{aligned} \right\} \dots\dots(4)$$

糖の代謝に、能動輸送と結合した代謝と糖蓄積に応じた代謝の2通りが存在することは、前章で除去進行中と完了後に分けた検討から明らかになっている。一般に糖蓄積からの代謝は小さいため、除去進行中は目立っていないが、その間も存在していると考えるのが妥当である。したがって、前章の式(1)、(2)を加えたのが全体の代謝になり、次の式が成立する。

$$\left. \begin{aligned} S_{ex} > 0; \\ \left(-\frac{dS_{ML}}{dt}\right) &= \alpha \left(-\frac{dS_{ex}}{dt}\right) \\ &\quad + K_1 \cdot M_a \cdot \left(\frac{S_{in}}{M_a} - C_b\right) \\ S_{ex} = 0; \\ \left(-\frac{dS_{ML}}{dt}\right) &= K_1 \cdot M_a \cdot \left(\frac{S_{in}}{M_a} - C_b\right) \end{aligned} \right\} \dots\dots(5)$$

汚泥中糖蓄積の変化は、物質収支により除去速度から代謝速度を引いたものになるので次の式が成り立つ。

$$\left. \begin{aligned} S_{ex} > 0; \\ \left(\frac{dS_{in}}{dt}\right) &= \left(-\frac{dS_{ex}}{dt}\right) - \left(-\frac{dS_{ML}}{dt}\right) \\ S_{ex} = 0; \\ \left(\frac{dS_{in}}{dt}\right) &= -\left(-\frac{dS_{ML}}{dt}\right) \end{aligned} \right\} \dots\dots(6)$$

$\left(\frac{dS_{in}}{dt}\right)$: 汚泥中全糖蓄積速度 (mg/l/hr)

これらの式のほかに、生物量として採用した生物本体の量 (M_a) の変化を表す式が必要である。 M_a の増加に寄与するのは糖の代謝であり、すでにみたとおり、糖代謝には2種あるので、分けて考察することにする。まず、除去に関係した糖代謝による細胞合成についてみる。除去された糖の量に対する汚泥の収率を β とすると、この値は汚泥と投与基質の種類を決めればほぼ一定値となる(表-3)。また、除去された糖の量に対する糖蓄積の形成率 $(1-\alpha)$ も定数である。したがって、収率から糖蓄積の寄与分を引いた残り $\{\beta - (1-\alpha)\}$ が、糖除去量に対する細胞の合成率となる。次に、糖蓄積の代謝による細胞合成についてみる。除去完了後の糖蓄積の代謝速度と M_a の増加速度の実測値については、 M_a の測定精度がそれほどよくないこともあってよい関係は得られなかった。しかし、汚泥中糖蓄積の各バッチ実験での最大値から基底蓄積までの減少量とその間の M_a の増加量との比をそれぞれのバッチ実験について求めると、ほぼ一定に近い値となるので、この値をもって糖蓄積の代謝のうち細胞合成に利用される割合と考えることにする。 M_a の減少は自己酸化による。これは生物量に対して1次反応で起こるといわれている²³⁾ので、それを利用する。以上をまとめて式にする。

$$\left. \begin{aligned} S_{ex} > 0; \\ \left(\frac{dM_a}{dt}\right) &= (\alpha + \beta - 1) \left(-\frac{dS_{ex}}{dt}\right) \\ &\quad + r \cdot K_1 \cdot M_a \cdot \left(\frac{S_{in}}{M_a} - C_b\right) - K_2 \cdot M_a \\ S_{ex} = 0; \\ \left(\frac{dM_a}{dt}\right) &= r \cdot K_1 \cdot M_a \cdot \left(\frac{S_{in}}{M_a} - C_b\right) - K_2 \cdot M_a \end{aligned} \right\} \dots\dots(7)$$

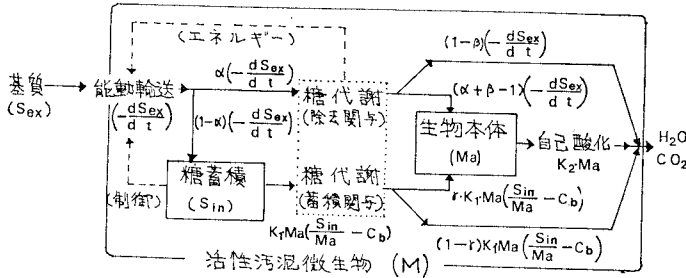


図-11 活性汚泥の能動輸送型糖除去モデル

K_2 : 自己酸化速度定数 (1/hr)
 r : 細胞合成量/糖蓄積の代謝量の比例定数
 $\left(\frac{dM_a}{dt}\right)$: 生物本体の増殖速度 (mg/l/hr)

MLSS は定義から次の式で表される.

$$M = M_a + S_{in} \dots \dots \dots (8)$$

M : 汚泥濃度 [MLSS] (mg/l)

以上の式 (4)~(8) により能動輸送型の糖除去機構のモデルが完成した. この関係を図示したのが図-11 である.

(2) 係数の求め方

係数の求め方をグルコースの場合について述べる. まず, 図-10 において糖蓄積と除去速度の関係を直線近似し, 横軸との交点と傾きから $K_0 = 2.1$ 1/hr と $C_{max} = 0.78$ mg/mg Ma が求まる. 図-8 から代謝速度/除去速度の比 $\alpha = 0.42$ が求まる. 図-9 からは, 近似直線の横軸との交点と傾きから $C_b = 0.25$ mg/mg Ma と $K_1 = 0.19$ 1/hr が求まる. 収率 β は表-3 から 0.71 と決まり, r は実測値から 0.7 となる. K_2 は文献値²³⁾を採用して 0.005 1/hr を用いることにする. このようにして求めた係数をフラクトースとキシロースの場合も合わせて表-4 に示した.

(3) シミュレーションの結果

式 (4)~(8) に表-4 の係数とバッチ実験の初期条件を代入し, 電子計算機によりルンゲ・クッタ法でシミュ

表-4 シミュレーションに用いた係数

係数	基質 汚泥	グルコース	フラクトース	キシロース
		グルコース汚泥	フラクトース汚泥	キシロース汚泥
K_0	(1/hr)	2.1	1.5	0.083
K_1	(1/hr)	0.19	0.22	0.090
K_2	(1/hr)	0.005	0.005	0.005
α		0.42	0.55	0.65
β		0.71	0.50	0.65
r		0.70	0.70	0.70
C_{max}	(mg/mg Ma)	0.78	0.75	2.0
C_b	(mg/mg Mg)	0.25	0.19	0.15

レーションを行った. 図-12~14 がその結果で, 実線がシミュレーションの結果を, 点が実測値を示している. 生物を用いた実験なので, バッチ実験結果は, バッチごとの変動がかなりある. それに対し, シミュレーションの係数は多くのバッチ実験の平均から求められているので, シミュレーション結果と実測値は完全には一致していない. それでも, グルコース, フラクトース, キシロースとい

う 3 つの場合の違いを, 傾向としてはうまく表現できている.

(4) 本論文のモデルと既存のモデルの相違について

本論文で提案したモデルの特徴は, 糖の除去がエネルギーを要する能動輸送によるとし, そのエネルギーの供給源としての糖代謝を考えた点にある. 既存のモデルと比較するため, 汚泥中糖蓄積と汚泥の活性との関係を示す図-15 を説明する. この図は, 図-9 と 10 を合わせ

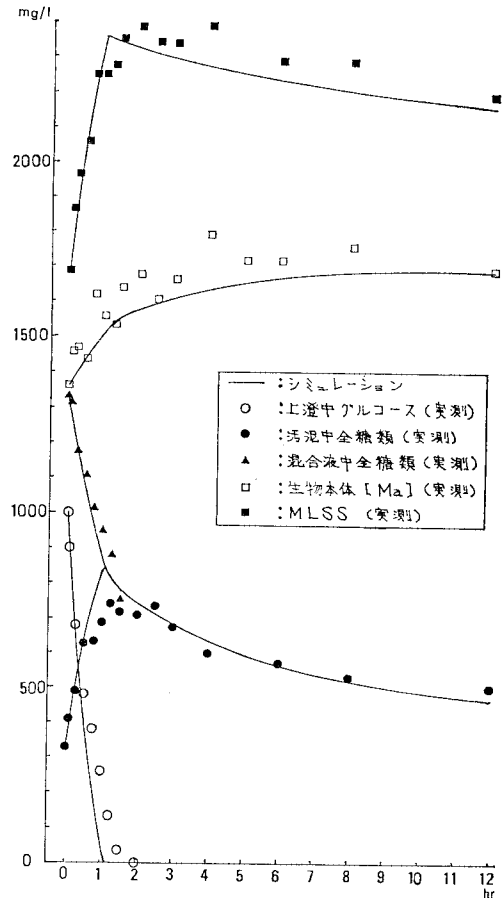


図-12 シミュレーションと実測値 (グルコースをグルコース汚泥に投与した場合)

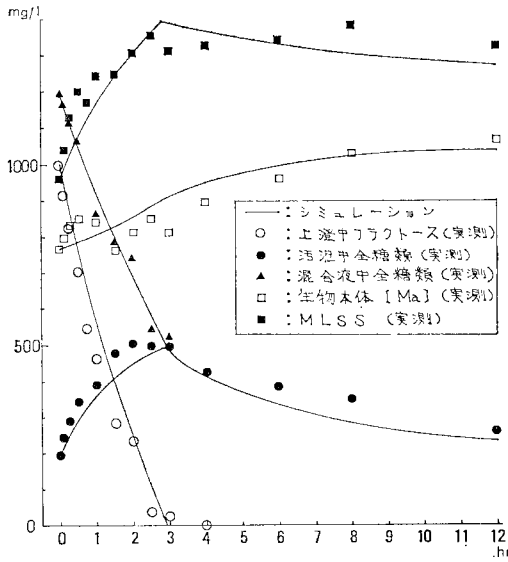


図-13 シミュレーションと実測値 (フラクトースをフラクトース汚泥に投与した場合)

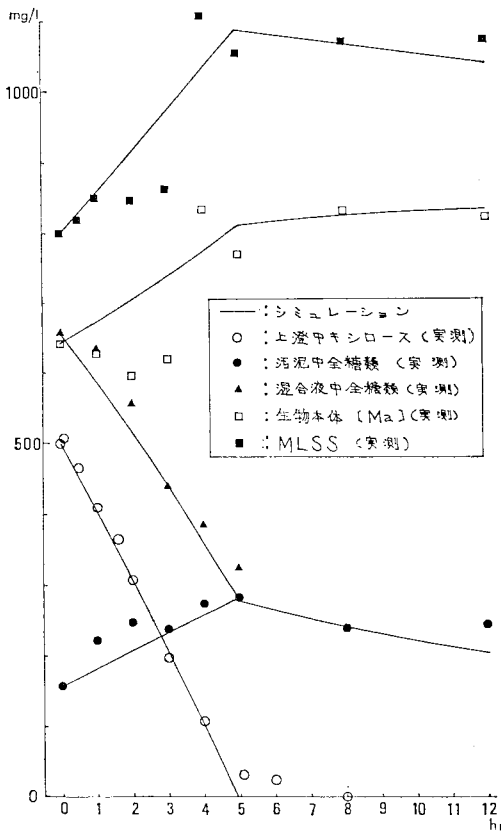


図-14 シミュレーションと実測値 (キシロースをキシロース汚泥に投与した場合)

て、グルコースの場合について描いたものである。直線 AB が糖蓄積と除去の関係に近い線である。上澄中

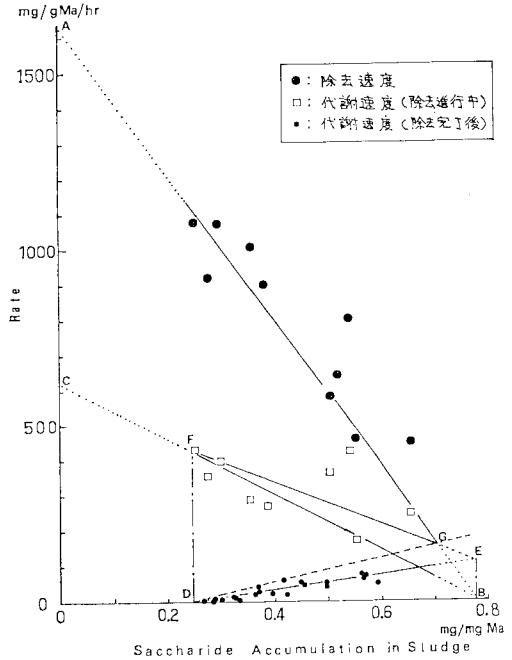


図-15 汚泥中糖蓄積と汚泥の除去・代謝能の関係 (グルコースをグルコース汚泥に投与した場合)

基質が十分あり除去が進行している間は、能動輸送による除去に対応した代謝が式 (1) に従って起こるので、除去速度を表す直線 AB に対応した代謝速度の直線 CB を引くことができる。もう 1 つの代謝である汚泥中糖蓄積からの代謝速度は DE によって表される。除去進行中は、2 通りの代謝が同時に起こっているのので、CB と DE を加え合わせた FE が全代謝速度を表すことになる。FE に対応する実測値も図に示した。除去完了後は除去と関連した代謝はないので、DE が全代謝速度を表す。さて、除去進行中の代謝速度を表す FE と AB の交点 G では、除去速度と代謝速度が同じになっている。すなわち、G より汚泥中糖蓄積が増えたところでは、除去より代謝が速くなるわけで、このような糖蓄積は起こり得るべくもなく、当然、G が十分に基質を与えられたときに起こり得る最大汚泥中糖蓄積を表していることになる。

さて、既存のモデルではどのようにになっているのだろうか。合田ら¹¹⁾のモデルでは、基質を除去している間に限り酸素摂取速度が大きいことを認めているにもかかわらず、除去に伴う糖代謝を考えておらず、代謝は糖蓄積量に比例して起こるだけになっている。しかも、蓄積からの代謝速度定数を求めるとき、汚泥中糖蓄積が最大になるところ、すなわち点 G では、代謝速度が除去速度と等しくなることを利用している。したがって、合田らのモデルでは DG が除去進行中と完了後を通じての代謝

速度を表す直線となっている。すなわち、合田らのモデルは、除去進行中の代謝を過小に、除去完了後の代謝を過大に評価することになり、正確ではないと考えられる。このことは、糖蓄積が代謝していく速度定数 (K_1) の値が、合田らでは 0.63 1/hr であるのに対し、本論文では同じグルコースを基質とした場合、図-9 から実測値に基づいて求めると、0.19 と小さくなっていることからわかる。

除去が能動輸送によっており、そこにエネルギーが必要なことを指摘した論文としては、野北ら²⁴⁾の呼吸解析からのモデル化の例がある。しかし、酸素消費や二酸化炭素の発生についてモデル化をしているだけであって、糖代謝と結びつけておらず、汚泥中糖蓄積まで考慮したモデルとはなっていない。したがって、本論文で提案したモデルは既存のモデルより一歩進んだものとなっている。

なお、本モデルでは能動輸送に必要なエネルギーをそれとカップリングした糖代謝が供給しているとしたが、能動輸送とカップリングした糖代謝では、糖の完全酸化が起こっているわけではなく、この間の汚泥収率は 6~7 割に達している。したがって、この糖代謝のうち能動輸送のエネルギーに使われたのは一部分でしかないようである。

7. 結 論

活性汚泥の糖除去機構を、汚泥中糖蓄積を実測することにより解析した。これにより、これまで数多く提出されてきた除去の速度式の総合的評価が可能になったと考える。すなわち、除去には吸着型と能動輸送型の 2 通りを考える必要があり、そのいずれが働いているかにより除去機構はまったく異なってくる。したがって、この 2 つを区別しない速度式のあてはめは無意味である。また、除去が 0 次反応か 1 次反応かというような問題についても、汚泥中糖蓄積による除去阻害の効き方の違いによって除去パターンが変わるという点から説明していく必要があることがわかった。

本論文では、糖を基質として解析したので、他の基質についても同様な機構があてはまるかについては、今後の検討が必要であるが、得られた知見をまとめると次のようになる。

(1) 糖除去には吸着型と能動輸送型の 2 通りがあった。これは、汚泥中糖蓄積の内容を詳しく調べる中で明らかにできた。

(2) 吸着型の除去では、糖が投与されたままの形で汚泥に蓄積するのに対し、能動輸送型ではグルコース重合体に変換されて蓄積する。

(3) 能動輸送型の除去はエネルギーを必要とし、それとカップリングした糖代謝が存在する。

(4) 能動輸送型の除去は、汚泥中糖蓄積が増加すると阻害を受けるが、その程度は糖の種類により異なる。

(5) 汚泥中の糖蓄積は 1 次反応で代謝される。

(6) 以上の知見に基づいた活性汚泥の糖除去モデルを提案した。このモデルにより、グルコース、フラクトースおよびキシロースのバッチ実験結果をシミュレーションすることができた。

謝 辞：本研究を行うにあたり、杉淵 武氏および坂口光一氏にご協力をいただきました。ここに謝意を表します。なお、本研究は著者らが東京大学に在籍中に行ったものである。

【記 号】

α : 代謝速度/除去速度の比例定数 (1)

β : 汚泥の収率 (mg/mg)

r : 細胞合成量/糖蓄積代謝量の比例定数 (1)

C_b : 基底糖蓄積 (mg/mg Ma)

C_{max} : 除去速度が 0 となる仮想最大汚泥中糖蓄積 (mg/mg Ma)

K_0 : 除去速度定数 (1/h)

K_1 : 糖蓄積代謝速度定数 (1/hr)

K_2 : 自己酸化速度定数 (1/hr)

M : MLSS (mg/l)

M_a : 生物本体の濃度 [MLSS- S_{in}] (mg/l)

S_{ex} : 上澄中糖濃度 (mg/l)

S_{in} : 汚泥中全糖濃度 (mg/l)

S_{ML} : 混合液中全糖濃度 (mg/l)

$\left(\frac{dM_a}{dt}\right)$: 生物本体増殖速度 (mg/l/hr)

$\left(-\frac{dS_{ex}}{dt}\right)$: 上澄中糖除去速度 (mg/l/hr)

$\left(\frac{dS_{in}}{dt}\right)$: 汚泥中全糖蓄積速度 (mg/l/hr)

$\left(-\frac{dS_{ML}}{dt}\right)$: 混合液中全糖代謝速度 (mg/l/hr)

参 考 文 献

- 1) 益永茂樹・楠井隆史・中西準子：活性汚泥法と汚泥中蓄積物（その 2）—染料—，土木学会第 33 回年次学術講演会講演概要集，第 2 部，pp. 219~220，1978 年 9 月。
- 2) 益永茂樹・楠井隆史・河崎哲久・中西準子：活性汚泥法と汚泥中蓄積物（その 3）—ABS—，土木学会第 33 回年次学術講演会講演概要集，第 2 部，pp. 221~222，1978 年 9 月。
- 3) Gaudy, A.F.Jr. : Studies on induction and repression in activated sludge systems, Applied Microbiology, Vol. 10, pp. 264~271, 1962.
- 4) Stumm-Zollinger, E : Effects of inhibition and repression on the utilization of substrates by heterogeneous bacterial communities, Applied Microbiology,

- Vol. 14, No. 4, pp. 654~664, July, 1966.
- 5) Siddigi, R.H., R.S. Engelbrecht and R.E. Speece : The role of enzymes in the contact stabilization process, *Advances in Water Pollution Research, Proc. of 3rd International Conference*, Vol. 2, pp. 353~380, Sept., 1966.
 - 6) Jeris, J.S. and R.R. Candenas, Jr. : Glucose disappearance in biological treatment systems, *Applied Microbiology*, Vol. 14, No. 6, pp. 857~864, Nov., 1966.
 - 7) Painter, H.A., R.S. Denton and C. Quarmby : Removal of sugars by activated sludge, *Water Research*, Vol. 2, No. 6, pp. 427~447, June, 1968.
 - 8) Walters, C.F., R.S. Engelbrecht and R.E. Speece : Microbial substrate storage in activated sludge, *Proc. of A.S.C.E.*, Vol. 94, No. SA 2, pp. 257~269, Apr., 1968.
 - 9) 真柄泰基・林田 進 : 活性汚泥の基質除去活性に関する研究, *下水道協会誌*, Vol. 9, No. 97, pp. 19~25, 1972年6月.
 - 10) Dohanyos, M., P. Grau and J. Chudoba : Kinetic assessment of glucose removal and saccharide accumulation capacities in activated sludge, *Advances in Water Pollution Research, Proc. of 5th International Conference*, pp. II-3/1~II-3/7, 1970.
 - 11) 合田 健・宗宮 功・津野 洋 : 基質除去ならびに代謝に関する動力学モデル, *土木学会論文報告集*, No. 213, pp. 17~28, 1973年5月.
 - 12) 福井作藏 : 還元糖の定量法, pp. 140~143, 東京大学出版会, 1969.
 - 13) Gaudy, A.F., Jr. : Colorimetric determination of protein and carbohydrate, *Industrial Water & Wastes*, Vol. 7, No. 1, pp. 17~22, Jan.-Feb., 1962.
 - 14) Norris, J.R. and D.W. Ribbons : *Methods in Microbiology*, Vol. 5B, p. 295, Academic Press, 1971.
 - 15) *ibid.* pp. 285~291.
 - 16) 微生物研究法懇談会 : 微生物実験法, p. 263, 講談社, 1975.
 - 17) 馬淵依子 : 活性汚泥中のタンパク質の定量について, *用水と廃水*, Vol. 14, No. 11, pp. 1434~1437, 1972年11月.
 - 18) Norris, J.R. and D.W. Ribbons : *Methods in Microbiology*, Vol. 5B, pp. 304~307, Academic Press, 1971.
 - 19) Finean, J.B., R. Coleman and R.H. Michell (佐藤・日野訳) : 生体膜と細胞活動, p. 178. 培風館, 1977年9月.
木村 光 : 大腸菌の糖代謝, 蛋白質・核酸・酵素, Vol. 24, No. 3, pp. 313~318, 1979年2月, などを参照.
 - 20) Cohen, G.N. and J. Monod : Bacterial permeases, *Bacteriological Reviews*, Vol. 21, No. 3, pp. 169~194, Sept., 1957.
 - 21) Heredia, C.F., A. Sols and G. DelaFuente : Specificity of the constitutive hexose transport in yeast, *European J. Biochem.*, Vol. 5, No. 3, pp. 321~329, 1968.
 - 22) 益永茂樹・楠井隆史・河崎哲久・中西準子 : 活性汚泥の培養方式と汚泥中糖蓄積の挙動, 第16回衛生工学研究討論会講演論文集, pp. 43~48, 1980年1月.
 - 23) McKinney, R.E. : *Microbiology for Sanitary Engineers*, pp. 196~197, McGraw-Hill Book Company, 1962.
 - 24) 野北舜介・渡辺昭二 : 呼吸解析による活性汚泥の代謝機構のモデル化, *下水道協会誌*, Vol. 14, No. 161, pp. 37~47, 1977年10月.

(1979.7.3・受付)